

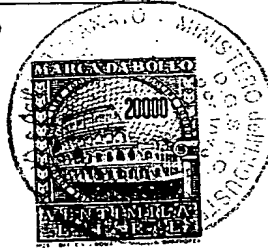


09 / 787764

MINISTERO DELL'INDUSTRIA, DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

DIREZIONE GENERALE DELLA PRODUZIONE INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

EP99/6980



REC'D 27 OCT 1999

WIPO

PCT

INV. IND.

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per

N. MI98A002064.....

PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito*

31 AGO. 1999

Roma, li

IL REGGENTE

IL DIRETTORE DELLA DIVISIONE

D.ssa Paola DI CINTIO

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODUL



A. RICHIEDENTE (I)

N.G.

SR

1) Denominazione INNOVET ITALIA S.p.A. codice 11 929 51 01 51
Residenza MILANO
2) Denominazione CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE codice ED
Residenza ROMA codice 02 11 83 11 006

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome FERRECCIO RINALDO ED ALTRI cod. fiscale
denominazione studio di appartenenza JACOBACCI & PERANI S.p.A.
via VISCONTI DI MODRONE n. 7 città MILANO cap 20 122 (prov) MI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via n. città cap (prov)

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci)

gruppo/sottogruppo

DERIVATI A STRUTTURA N-ACIL VANILLINAMIDICA IN GRADO DI ATTIVARE I RECETTORI
PERIFERICI DEI CANNABINOIDI

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

INVENTORI DESIGNATI cognome nome

cognome nome

1) BISOGNO TIZIANA 3) DE PETROCELLIS LUCIANO
2) DELLA VALLE FRANCESCO 4) DI MARZO VINCENZO

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

1) 2) 3) 4)

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

oc. 1) 2 PROV n. pag. 69 riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
oc. 2) 0 PROV n. tav. 1 disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
Doc. 3) 0 RIS lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale
Doc. 4) 0 RIS designazione inventore
Doc. 5) 0 RIS documenti di priorità con traduzione in italiano
Doc. 6) 0 RIS autorizzazione o atto di cessione
Doc. 7) 0 nominativo completo del richiedente

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

confronta singole priorità

6) attestati di versamento, totale lire NOVECENTOQUINDICIMILA= obbligatorioCOMPILATO IL 24 09 1998

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

RINALDO FERRECCIOCONTINUA S/NO SIDEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA S/NO SI

UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI

MILANOcodice 15

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI98A-002064

Reg. A

L'anno millenovecento

NOVANTOTTO

il giorno

VENTIQUATTRO

del mese di

SETTEMBREil (i) richiedente (i) sopraindicato (i) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. 01 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraindicato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

IL DEPOSITANTE

timbro
dell'ufficio

L'UFFICIALE ROGANTE

CORTONESI MAURIZIO

FOGLIO AGGIUNTIVO n. 01 di totali 0

DOMANDA N.

REG. A

1198002064

A. RICHIEDENTE (I)

N.G.

<input type="checkbox"/>	Denominazione		
	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
	Residenza		codice

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

05	MARCOLONGO GABRIELE		
06	MELCK DOMINIQUE		

F. PRIORITÀ

nazione e organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

Firma del (I) RICHIEDENTE (I)

RINALDO FERRECCIO

SPAZIO RISERVATO ALL'UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA

M198A002064

REG. A

DATA DI DEPOSITO

24/09/1998

DATA DI RILASCIO

/ /

NUMERO BREVETTO

A. RICHIEDENTE (1)

Denominazione

INNOVET ITALIA S.r.l. e Consiglio Nazionale delle Ricerche

Residenza

rispettivamente MILANO, ROMA

D. TITOLO

Derivati a struttura N-ACIL vanillinamidica in grado di attivare i recettori periferici dei cannabinoidi

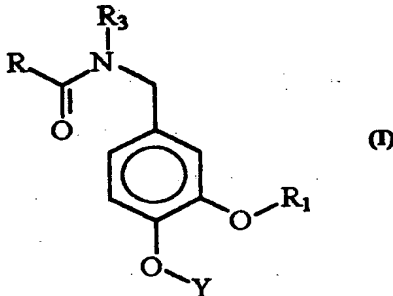
Classe proposta (sez./cl./scl/)

(gruppo/sottogruppo)

L. RIASSUNTO

La presente invenzione riguarda l'uso di derivati a struttura N-acil vanillinamidica in grado di attivare il recettore periferico CB1 dei cannabinoidi.

In particolare, la presente invenzione riguarda l'uso di composti di formula generale (I):



in cui i significati di R, R₁, R₃ e Y sono come definiti nella seguente descrizione, per la preparazione di un medicamento in grado di attivare il recettore periferico CB1 dei cannabinoidi.

M. DISEGNO

24 SET. 1998

Titolare: INNOVET ITALIA s.r.l. e Consiglio Nazionale
delle Ricerche I0085053/GL


Descrizione

La presente invenzione riguarda l'uso di derivati a struttura N-acil vanillinamidica in grado di attivare il recettore periferico CB1 dei cannabinoidi.

Stato dell'arte

La iperreattività di determinati stipiti cellulari (esempio: mastociti, basofili, neuroni glutamnergici, neuroni dopaminergici, cellule lattotrope e mammotrope dell'ipofisi, ecc.) e, di conseguenza, la iperreattività dei tessuti, anche tumorali, influenzati da detti stipiti cellulari viene considerata, alla luce delle più recenti conoscenze scientifiche, la conseguenza di fenomeni di sensitizzazione delle cellule (in genere nervose) deputate alla stimolazione degli stessi stipiti cellulari.

Tali fenomeni di sensitizzazione, sostenuti dai livelli di effettori specifici, sono regolati da fini meccanismi di agonismo/antagonismo nei quali il Fattore di Crescita Nervoso (NGF) è stato recentemente dimostrato giocare un ruolo chiave.



Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(in proprio e per gli altri)

E' stato recentemente dimostrato che il NGF, captato a livello dei terminali periferici di fibre sensitive attraverso il recettore specifico ad alta affinità trkA, è in grado di agire su specifici gruppi di neuroni sensitivi - capsaicino sensibili - e sui rispettivi assoni periferici che innervano i tessuti, causando un rapido ed intenso aumento dei trasmettitori peptidergici Sostanza P e CGRP (calcitonin gene-related peptide) [R. Levi Montalcini ed altri, (1996) TINS, 11: 514-520].

Attraverso questo meccanismo il NGF prodotto, immagazzinato e prontamente rilasciato in periferia - principalmente a livello dei mastociti residenti [A. Leon ed altri (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91: 3739-3743] - è in grado di influenzare la sensitività dei neuroni sensoriali.


Inoltre la vasta mole di ricerche recentemente sviluppate hanno messo in evidenza gli effetti del NGF su popolazioni cellulari - circolanti e residenti - notoriamente coinvolte nel sostenere specifiche situazioni patologiche su base iperreattiva.

In particolare, aumenti locali di NGF [A. Hamada ed altri (1996) British J. Aematol., 93: 299-302; P.T. Manning ed altri (1985) Brain Res., 340: 61-69; U. Otten ed altri (1989) Proc. Natl. Acad. Sci.


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)


U.S.A., 86: 1059-1063; Y. Kannan ed altri (1991) Blood, 77:1320-1325; A. Lambiase ed altri (1997) J. Allergy Clin. Immunol., 100: 408-414; L. Bracci Laudiero ed altri (1996) Neuroreport, 7: 485-488; H. Matsuda ed altri (1991) J. Exp. Med., 174: 7-14; R. Levi Montalcini ed altri (1977) Brain Res., 133: 358-366; A. Bruni ed altri (1982) FEBS Letters, 138: 190-194; R. Paus ed altri (1994) British J. Dermatol., 130: 174-180; C. Pincelli ed altri (1997) J. Invest. Dermatol., 109: 757-764; Y. Susaki ed altri (1996) Blood, 88: 4630-4637; J. Bienenstuck ed altri (1987) Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 82: 238-243; N. Mazurek ed altri (1986) FEBS Letters, 198: 315-320; M. Tomioka ed altri (1988) J. Allergy Clin. Immunol., 82: 599-607; M. Proesmans ed altri (1997) Mol. Cell. Endocrinol., 134: 119-127; C. Missale ed altri (1995) Endocrinology, 136: 1205-1213; S. Descamp ed altri (1998) J. Biol. Chem., 273: 16659-16662; B.R. Pflug ed altri (1995) Endocrinology, 136: 262-268; A. Angelsen ed altri (1998) Scand. J. Urol. Nephrol., 32: 7-13; A.A. Geldof (1997) J. Cancer Res. Clin. Oncol., 123: 107-112] sono in grado di:

- abbassare, attraverso un effetto "priming", la soglia di attivazione dei basofili circolanti e dei mastociti residenti;


 Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (in proprio e per gli altri)




- aumentare la citotossicità e la chemiotassi degli eosinofili;
- stimolare la fagocitosi, la citotossicità ed il rilascio citochinico specifico dei macrofagi;
- aumentare la proliferazione dei cheratinociti;
- attivare la differenziazione e la proliferazione dei linfociti B nonché la produzione di anticorpi da parte degli stessi;
- stimolare la produzione di neuropeptidi da parte dei linfociti T;
- indurre la chemiotassi dei neutrofili;
- stimolare la differenziazione verso il fenotipo connettivale dei precursori dei mastociti;
- aumentare il numero delle cellule lattotrope dell'ipofisi incorporanti [^3H] timidina ed aumentare il numero di cellule che esprimono mRNA per la Prolattina.
- stimolare la proliferazione e la differenziazione terminale di cellule mammotrope dell'ipofisi nel corso di maturazione post-natale.
- stimolare la proliferazione di cellule di tumore della mammella (MCF-7) ma non la crescita di cellule epiteliali normali della mammella (NBEC).
- regolare la crescita di cellule epiteliali umane di prostata.


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(in proprio e per gli altri)

- stimolare la velocità di crescita e la capacità invasiva di linee cellulari umane di carcinoma della prostata (DU-145; PC-3; ecc.).

Sono stati pubblicati svariati lavori che hanno messo in evidenza come aumenti rilevanti di NGF siano associati a varie patologie su base iperreattiva, come ad esempio:

- artrite cronica [L. Aloe ed altri (1992) Arthritis Rheum., 35: 351-355]
- sclerosi multipla [L. Bracci Laudiero ed altri (1992) Neurosci. Lett., 147: 9-12]
- lupus eritematoso [L. Bracci Laudiero ed altri (1993) Neuroreport, 4: 563-565; L. Bracci Laudiero ed altri (1996) Neurosci. Lett., 204: 13-16]
- sclerodermia [M.A. Tuberi ed altri (1993) Clin. Exp. Rheumatol., 11: 319-322]
- patologie allergiche ed in particolare sindrome orticaria, angioedema ed asma [S. Bonini ed altri (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 93: 10955-10960]
- cheratocongiuntivite [A. Lambiase ed altri (1995) Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 36: 21-32]
- infezioni parassitarie [L. Aloe ed altri (1994) Neuroreport, 5: 1030-1032; L. Aloe ed altri (1996) Acta Neuropathol., 92: 300-305]


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. Iscriz. ALBO 525
 (In proprio e per gli altri)


- astinenza da alcol e da eroina [L. Aloe ed altri (1996) Alcohol Clin. Exp. Res., 20: 462-465]
- manifestazioni di stress psicologico e di ansia [L. Aloe ed altri (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 91: 10440-10444]
- granuloma [R. Levi Montalcini ed altri (1960) IV Int. Neurochem. Symp.]
- psoriasi [S.P. Raychaudhuri ed altri (1998) Acta Derm. Venereol., 78: 84-86]

Sia in periferia che nel Sistema Nervoso Centrale è stato messo in rilievo il fenomeno della sensitizzazione (rispettivamente "sensitizzazione periferica" e "sensitizzazione centrale").

In periferia il fenomeno è dovuto al fatto che per attivare, ad esempio, i nocicettori, normalmente ad elevata soglia, diviene sufficiente una più bassa stimolazione.


Sempre in periferia il fenomeno della sensitizzazione è in grado di influenzare i numerosi e delicati meccanismi biologici nei quali la Sostanza P (SP) gioca un ruolo di effettore.

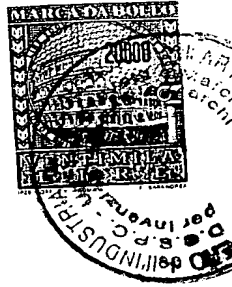
In particolare è noto infatti che [T. Lotti ed altri (1995) J. Am. Acad. Dermatol., 33: 482-496; J.C. Ansel ed altri (1996) J. Invest. Dermatol., 106: 198-204; M. Suzuki ed altri (1995) Peptides, 16:


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (In proprio e per gli altri)

1447-1452; J. Luber-Narod ed altri (1994) J. Immunol., 152: 819-824; H.P. Hartung (1998) Fed. Amer. Soc. Exp. Biol. Journal, 2: 48-51; G. Jancso (1985) Intern. J. Tiss. React., 7: 449-457; F. Shanahan (1986) Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 80: 424-426; I. Berczi (1996) Baillière's Clin. Rheumat., 10: 227-257]:


- SP agisce sull'endotelio microvasale sia direttamente attraverso l'interazione con il recettore specifico NK1 sia indirettamente mediante contrazione delle fibre muscolari lisce e mediante il rilascio mastocitario di istamina.
- SP agisce direttamente sul mastocita determinando il fenomeno della degranulazione, senza peraltro necessitare di Ca^{2+} extracellulare.
- SP induce l'adesione dei leucociti all'endotelio presumibilmente attraverso la degranulazione mastocitaria.
- SP stimola la sintesi di mediatori non immagazzinati, come i leucotrieni.
- SP stimola in maniera specifica la produzione e la secrezione mastocitaria del Tumor Necrosis Factor ($TNF-\alpha$) in modo concentrazione-dipendente.


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)



- SP induce nei cheratinociti la sintesi della Interleuchina 1 (IL-1) ma non del Tumor Necrosis Factor (TNF- α) e della Interleuchina 8 (IL-8).
- SP induce la produzione e la secrezione di Interleuchina 8 (IL-8) nell'endotelio microcircolatorio.
- SP aumenta la proliferazione dei linfociti T circolanti.
- SP aumenta la sintesi di Immunoglobuline A (IgA).
- SP regola la sintesi di citochine nei monociti (compreso l'Interferone- γ).
- SP induce infiltrazione di granulociti nella pelle mediata da leucotriene B4.
- SP stimola la proliferazione dei fibroblasti, delle cellule muscolari lisce, dei cheratinociti e dell'endotelio, giocando quindi un ruolo chiave nei processi di riparazione tissutale.
- SP aumenta la secrezione di Tumor Necrosis Factor (TNF- α) dalle cellule neurogliali dopo attivazione con lipopolisaccaridi. Questa azione della SP è mediata dagli astrociti.
- SP stimola il rilascio di prostaglandina E2 (PGE2) e di collagenasi da sinoviociti reumatoidi.

La "sensitizzazione centrale" consiste nel fatto che, nel Sistema Nervoso Centrale, l'aumento dei



Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

livelli di Sostanza P e di CGRP stimolati dal NGF nei terminali centrali di neuroni sensitivi, dà inizio ad una "facilitazione sinaptica" prolungata a livello del midollo spinale.

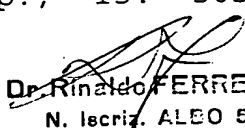
In pratica, input sensoriali afferenti al midollo spinale sono in grado di determinare sensazioni di dolore in modo mediato dai recettori glutamnergici NMDA e da recettori delle tachichinine come risultato dell'aumento di release di amminoacidi eccitatori e di neuropeptidi [C.J. Woolf (1983) Nature, 306: 686-688; R. Levi Montalcini ed altri (1996) TINS, 11: 514-520].

A livello di strutture ipofisarie deputate alla sintesi della Prolattina e notoriamente sotto controllo centrale dopaminergico e serotoninergico attivato da stimoli psicogeni, l'NGF agisce come un induttore della produzione di Prolattina, considerata la sua capacità a determinare variazione del fenotipo verso cellule capaci di sintetizzare Prolattina [R. Levi Montalcini ed altri (1996) TINS, 11: 514-520].

In presenza di cellule tumorali esprimenti recettore per la Prolattina, l'aumento eccessivo dell'ormone può rappresentare un potente stimolo proliferativo per le stesse cellule. In particolare è noto che:


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

- cellule del tumore della mammella esprimono recettori alla Prolattina, rispondono al trattamento con Prolattina e sintetizzano loro stesse Prolattina [W. E. Simon ed altri (1985) J. Clin. Endocrinol. Metab. 60: 1243-1249; E. Giusburg ed altri (1995) Cancer Res. 55: 2591-2595; C.V. Clevenger ed altri (1995) Am. J. Athol. 146: 695-705; R. P. C. Shiu (1985) J. Biol. Chem. 260: 11307-11313].
- Cellule umane di carcinoma della prostata così come cellule della prostata umana normale e cellule di prostata umana provenienti da soggetti affetti da ipertrofia prostatica benigna, esprimono recettore alla Prolattina [M. Fakete ed altri (1989) Prostate, 14: 191-208]. La presenza di recettore specifico alla Prolattina su cellule provenienti da biopsia di prostata umana è stato studiato come indicatore prognostico di tumore della prostata [M.A. Blankenstein ed altri (1988) Scand. J. Urol. Nephrol. Supl., 107: 39-45]. La Prolattina, proveniente dal torrente circolatorio, attraverso l'interazione con i recettori specifici presenti su cellule della prostata è coinvolta nello sviluppo del tumore della prostata nell'uomo [L. Romero ed altri (1991) Acta Urol. Esp., 15: 503-509]. A

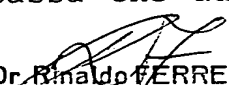

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

dimostrazione di tale coinvolgimento è stato dimostrato che è possibile ottenere una diminuzione dell'effetto della Prolattina sulla promozione della crescita del tumore della prostata, riducendo il numero totale dei recettori alla Prolattina [T. Kadar ed altri (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85: 890-894].

E' noto inoltre che NGF e Prolattina vengono cosintetizzati e corilasciati da determinate popolazioni cellulari ipofisarie [C. Missale ed altri (1994) Endocrinology, 135: 290-298].

Da parte sua l'anandamide, riconosciuta come il ligando endogeno del recettore cannabinoide CB1, è in grado di modificare i livelli serici di Prolattina [J. Weidenfeld ed altri (1994) Neuroendocrinology 59: 110-112; T. Wenger ed altri (1995) Life Sci. 56: 2057-2063; J. Romero ed altri (1994) Neuroendocrinol. Letts. 16: 159-164].

E' poi noto che molti tumori over-esprimono NGF o il suo recettore [S. Cohen ed altri (1954) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 40: 1014-1018; P.G. Chesa ed altri (1998) J. Histochem. Cytochem., 36: 383-389; M.D. Simone ed altri (1993) 34° Congresso di Ematologia, Napoli 5-8 ottobre]. E' noto in particolare che i recettori sia a bassa che ad alta


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)




affinità per il NGF vengono espressi in localizzazione stromale nei tessuti di prostata umana [T. Kadar ed altri (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85: 890-894].

In ogni caso non era finora nota la presenza di recettori cannabinoidi CB1 sulle cellule del tumore della mammella né su cellule di carcinoma della prostata [R.G. Pertwee (1997) Pharmacol. Ther. 74: 129-180].

Solo del tutto recentemente è stato visto che l'anandamide ed i suoi analoghi stabili sono in grado di ridurre la proliferazione cellulare di linee tumorali umane di cancro della mammella attraverso un'interazione specifica con il recettore cannabinoidi CB1; tale effetto risulta chiaramente prolattino-mediato [L. De Petrocellis (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 95: 8375-8380].

Il recettore cannabinoidi periferico CB1 viene espresso da neuroni sensitivi a Sostanza P - capsaicino sensibili - [AG. Hommann ed altri (1997) Abstract Soc. Neurosci. 23: 1954] e può essere misurato [J.D. Richardson ed altri (1998) J. Neurosci. 18: 451-457].

Lo stesso recettore è trasportato bidirezionalmente ai terminali sia centrali che


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

periferici di fibre sensitive primarie afferenti di detti neuroni.


Negli stessi terminali la stimolazione del recettore cannabinoide periferico CB1 inibisce la neurosecrezione di Sostanza P e di CGRP [J.D. Richardson ed altri (1998) Pain 75: 111-119].

In pratica la stimolazione del recettore cannabinoide periferico CB1 si oppone all'aumento di Sostanza P e di CGRP indotto da NGF.

Ne consegue che la stimolazione del recettore cannabinoide periferico CB1 determina - a livello dei terminali di fibre sensitive - regolazione della sensitizzazione, sia periferica che centrale, indotta da NGF.

A conferma di ciò è stato dimostrato che l'Anandamide - ligando endogeno del recettore cannabinoide CB1 - è in grado di inibire sia l'induzione che il perdurare di iperalgesia termica indotta da carragenina. L'effetto è antagonizzato dall'antagonista recettoriale specifico del CB1 denominato SR 141716A [J.D. Richardson ed altri (1998) Pain 75: 111-119].

Il recettore cannabinoide CB1 è presente a livello di varie strutture nervose dell'asse ipotalamo-ipofisi [J.J. Fernandez-Ruiz ed altri

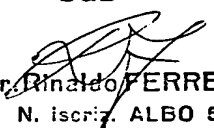

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

(1997) Biochem. Pharmacol., 53: 1919-1927 - T.Wenger ed altri (1997) Biochem. Biophys. Res. Comun., 273: 724-728].

E' stato inoltre recentemente dimostrato che i recettori cannabinoidi CB2 sono localizzati sul mastocita [L. Facci ed altri (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92: 3376-3380] e che l'attivazione di questi recettori a mezzo del ligando endogeno Palmitoiletanolamina (PEA) e di analoghi (ALIAmidi) è in grado di inibire l'attivazione mastocitaria indotta dalla Sostanza P [L. Aloe (1993) Agents Actions, 39: C145-C147].

E' stato anche dimostrato che la contemporanea somministrazione locale di Anandamide e di Palmitoiletanolamina determina effetto altamente sinergico antagonizzabile con gli antagonisti specifici dei rispettivi recettori [A. Calignano ed altri (1998) Nature, 394: 277-281]. E' questa un'ulteriore prova del fatto che i due recettori, oltre ad avere struttura diversa ed atta ad ospitare diversi tipi di ligandi, sono in grado di mediare diversi pattern di effetti o di causare lo stesso effetto, ma agendo con un diverso meccanismo.

E' quindi evidente che la ricerca di molecole che agiscano selettivamente sul recettore


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

cannabinoide periferico CB1 costituisce un obiettivo di grande interesse farmacologico.

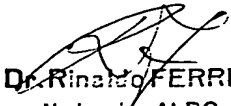
Sommario dell'invenzione

La presente invenzione è fondata sulla possibilità di antagonizzare per via farmacologica, attraverso la stimolazione funzionale dei recettori cannabinoidi periferici CB1 - sorprendentemente ottenuta con una famiglia di molecole N-acilvanillinamidiche (N-AVAM) -, gli effetti indotti da livelli sopramassimali di NGF, facilitanti il fenomeno della sensitizzazione centrale e periferica,

L'uso farmacologico di tali molecole apre nuove ed inaspettate prospettive terapeutiche in tutte quelle patologie caratterizzate da un elevato grado di iperreattività cellulare e tissutale sostenuto da livelli sopramassimali di NGF.

Abbiamo sorprendentemente scoperto che dette molecole N-acilvanillinamidiche (N-AVAM) sono in grado, per via farmacologica, di stimolare, in maniera funzionale, il recettore cannabinoide periferico CB1 con affinità comparabile a quella dell'Anandamide.

Da queste non prevedibili evidenze abbiamo scoperto che molecole N-AVAM sono in grado di controllare la iperreattività di determinati stipiti


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)



cellulari e di tessuti attraverso la regolazione della sensitizzazione centrale e periferica di fibre sensitive afferenti.

Abbiamo inoltre messo in evidenza per la prima volta che l'effetto delle molecole N-AVAM su determinate conseguenze della iperreattività cellulare e tissutale può essere sinergizzato da molecole N-acilamidiche (ALIAMidi) agenti su recettore cannabinoide CB2 espresso dal mastocita.

Abbiamo infine inaspettatamente scoperto che la somministrazione esogena di molecole N-AVAM è in grado di inibire in maniera dose dipendente e sempre attraverso la stimolazione del recettore cannabinoide CB1 la proliferazione di cellule tumorali, dipendente dalla presenza del recettore della prolattina (PRL), come ad esempio cellule umane di tumore della mammella e di cellule umane di carcinoma della prostata.

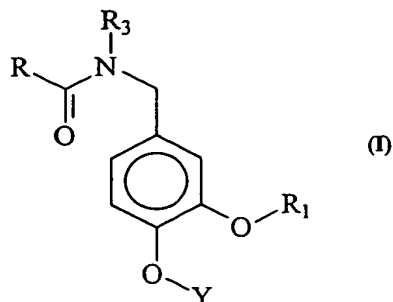
Molecole a struttura N-acilvanillinamidica sono note e sono state descritte avere attività agonista sul recettore CB2 (WO 96/18391). Noi abbiamo al contrario trovato che tali molecole hanno un'attività selettiva sul recettore cannabinoide periferico CB1.

Descrizione dell'invenzione

Oggetto della presente invenzione è l'uso di


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)

derivati di formula generale (I):



in cui:

a) R_1 è scelto nel gruppo comprendente idrogeno, C1-C10 alchile, lineare o ramificato, saturo o insaturo, C3-C7 cicloalchile o C7-C10 arilalchile;

b) Y è scelto nel gruppo comprendente:

b1. idrogeno;

b2. un gruppo di formula

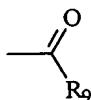


dove $-R_8-$ è un radicale C2-C6 alchilenico saturo, lineare o ramificato, e M è scelto nel gruppo comprendente $-NH_2$, acilammino, $-NHR_6$, $-NR_4R_5$, $^{\oplus}NR_4R_5R_6Z^-$, uguali o diversi fra loro, ed R_4 , R_5 ed R_6 , uguali o diversi fra loro, possono essere radicali C1-C7 alchilici, alchenilici o arilalchilici o R_4 ed R_5 possono formare un radicale cicloalchilico comprendente eventualmente eteroatomi quali -O- e -NR₁₂-, dove R_{12} è scelto tra idrogeno o un radicale alchilico, aralchilico o idrossialchilico

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

preferibilmente scelto tra $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ e Z^- è come sotto definito;

b3. un gruppo di formula




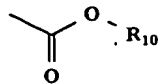
dove R_9 è un radicale C1-C10 alchilico, saturo o mono-insaturo, lineare o ramificato, o un radicale cicloalchilico, arilalchilico o eterociclico, eventualmente sostituito con uno o più gruppi $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}_6$, $-\text{NR}_4\text{R}_5$, $-\text{NR}_4\text{R}_5\text{R}_6$ Z^- , uguali o diversi fra loro, detti gruppi R_4 , R_5 ed R_6 , uguali o diversi fra loro, essendo scelti nel gruppo comprendente radicali C1-C7 alchilici, alchenilici o aralchilici, o R_4 ed R_5 possono formare un radicale cicloalchilico che può comprendere uno o più eteroatomi quali $-\text{O}-$ e $-\text{NR}_{12}-$, dove R_{12} è scelto tra idrogeno o un radicale alchilico, aralchilico o idrossialchilico preferibilmente scelto tra $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ e Z^- è come sotto definito,

b4. un gruppo $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{P}(\text{OH})_2$,

b5. un residuo monosaccaridico legato con legame α - o β - glicosidico,

b6. un gruppo di formula


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALEO 525
 (In proprio e per gli altri)



dove R_{10} è un radicale C1-C10 alchilico o alchenilico, lineare o ramificato, saturo o insaturo, o un radicale cicloalchilico o aralchilico, eventualmente contenente da 1 a 5 eteroatomi uguali o diversi tra loro scelti tra -S-, -O- o -N-, ed eventualmente sostituiti con uno o più gruppi -OH, -NH₂, -NH-CO-CH₃, -COOH, >C=O, H₂N-CO-NH-, NH=C(NH₂)-NH-, -NO₂, -OCH₃, -Cl, -Br, -F, -J, -OPO₃H₂, -OPO₂H₂, -OSO₃H, -OSO₃H, -SH, -SCH₃, -S-S-, -NHR₆, -N R₄R₅, -[⊕]NR₄R₅R₆ Z⁻ uguali o diversi fra loro, dove R₄, R₅ ed R₆, uguali o diversi fra loro, possono essere radicali C1-C7 alchilici, alchenilici o aralchilici o R₄ ed R₅ possono formare un radicale cicloalchilico comprendente uno o più eteroatomi quali -O- e -NR₁₂-, dove R₁₂ è scelto tra idrogeno o un radicale alchilico, aralchilico o idrossialchilico preferibilmente scelto tra -CH₃, -C₂H₅, -CH₂-C₆H₅ o -CH₂CH₂OH e Z⁻ è come sotto definito,

c) R₃ è scelto nel gruppo comprendente idrogeno o alchile lineare o ramificato;

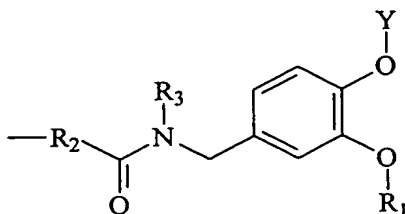
d) R è:


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALEO 525
 (in proprio e per gli altri)



d1. carbossile, $-\text{COOR}_7$, cicloalchile saturo o insaturo, alchile policiclico, arile, eteroarile, arilalchile o C1-C35 alchile, saturo o insaturo con da 1 a 6 doppi legami, lineare o ramificato, non sostituito o sostituito con uno o più residui scelti nel gruppo comprendente carbossile, $-\text{COOR}_7$, idrossile, alcossile, O-acilidrossile, chetoalchile, nitro, alogeno, $-\text{SH}$, alchiltio, alchilditio, ammino, mono- e di-alchilammino, N-acilammino, $-\text{NR}_4\text{R}_5\text{R}_6\text{Z}^-$, in cui R_4 , R_5 e R_6 , uguali o diversi tra loro, sono scelti nel gruppo comprendente C1-C7 alchile, C1-C7 alchenile, arilalchile e Z^- può essere l'anione di un acido inorganico o organico biologicamente compatibile e preferenzialmente scelto tra acido cloridrico, solforico, fosforico, metansulfonico, benzensulfonico, p-toluensulfonico, acetico, succinico, fumarico, lattico, gluconico, citrico, glucuronico, maleico o benzoico;

d2. un gruppo di formula



dove R_1 , R_3 e Y hanno i significati visti prima e R_2 può essere un legame semplice o un radicale C1-C34

[Signature]
Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (in proprio e per gli altri)


alchilene, lineare o ramificato, saturo o insaturo con da 1 a 6 doppi legami, un radicale cicloalchilenico, saturo o insaturo, un diradicale arilico, aralchilico o eterociclico, non sostituiti o sostituiti con uno o più residui scelti nel gruppo comprendente carbossile, $-COOR_7$, idrossile, alcossile, O-acilidrossile, alchilcheto, nitro, alogeno, $-SH$, alchiltio, alchilditio, ammino, mono- e di-alchilammino, N-acilammino, cicloalchile saturo o insaturo, arile o eteroarile;

in cui R_7 è un gruppo C1-C20 alchilico lineare o ramificato o è un gruppo aralchilico, enantiomeri e diastereoisomeri dei composti di formula (I) e miscele di essi, sali dei composti di formula (I) con acidi e basi farmaceuticamente accettabili e loro solvati, per la preparazione di un medicamento con attività agonista sul recettore periferico CB1 dei cannabinoidi.

Quando R è un gruppo alchilico, esso è preferibilmente un C6-C19 alchile.

R_1 è preferibilmente un gruppo C1-C7 alchile, in particolare metile, etile o isopropile, o un gruppo allile o benzile.

Quando R_8 è un gruppo alchilico, esso è preferibilmente un C1-C4 alchile.


Dr. Renato FERRECCIO
 N. Iscriz. ALEO 525
 (in proprio e per gli altri)

Quando R_8 è un gruppo acilammino, esso è preferibilmente scelto tra acetilammino, benzoilammino, mono-succinilammino o mono-glutarilammino.

Quando R_9 è un gruppo alchilico, esso è preferibilmente un C1-C7 alchile.

R_4 , R_5 e R_6 sono preferibilmente uguali e sono metile.

Quando Y è un gruppo saccaridico, esso è preferibilmente un mono-, di- o tri-saccaride, in cui i gruppi ossidrilici di tali gruppi saccaridici sono eventualmente esterificati con gruppi acile, solfato o fosfato, o sono rimpiazzati da uno o più gruppi amminici, eventualmente N-acilati.


Quando R_3 è un gruppo alchilico, esso è preferibilmente un C1-C5 alchile.

Quando R_2 è un gruppo alchilenico, esso è preferibilmente un C6-C12 alchilene, saturo o mono-insaturo.

R_7 è preferibilmente un C1-C5 alchile.

Con i termini "O-acilidrossile" o "N-acilammino" nei significati di R si intende preferibilmente un C2-C5 O-acilidrossile o C2-C5 N-acilammino.

Con il termine "alcossile" nei significati di R si intende preferibilmente un C1-C5 alcossile.


Dr. RINALDO FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

Con il termine "mono- e di-alchilammino" nei significati di R si intende preferibilmente mono- e di- C1-C5 alchilammino, rispettivamente.

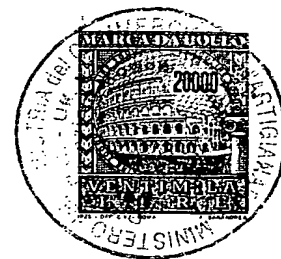
Composti di formula (I) particolarmente preferiti per l'uso secondo la presente invenzione sono quelli in cui:

- R_1 è metile;
- Y è idrogeno o un gruppo saccaridico scelto tra D- e L-ribosio, D- e L-glucosio, D- e L-galattosio, D- e L-mannosio, D-fruttosio, D- e L-glucosammina, D-galattosammina, D-mannosammina, acido glucuronico, acido sialico, N-acetil-D-glucosammina, N-acetil-Dgalattosammina, N-acetil-D-mannosammina; oppure amminoetile, dimetilamminoetile, trimetilamminoetile; oppure metilcarbonil, fenilcarbonil, piridinocarbonil, trimetossi fenilcarbonil, emisuccinil, amminometil-carbonil, amminopropilcarbonil, dimetilammino metilcarbonil, trimetilammino metilcarbonil, sulfono fenilcarbonil; oppure fosfato, sulfonato; oppure etilossicarbonil, benzilossicarbonil, isobutilossi carbonil, dimetilamminopropilossicarbonil, trimetilammino-etilossicarbonil;

- R_2 è idrogeno;

- R è come sopra definito.


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. Iscriz. ALBO 525
 (In proprio e per gli altri)




Composti di formula (I) più particolarmente preferiti sono quelli in cui R o R₂, assieme ai gruppi -CO- terminali cui sono legati, sono rispettivamente mono- o di-radicali acilici di un acido scelto nel gruppo comprendente acido palmitico, acido arachidonico, acido ossalico, acido fumarico, acido maleico, acido azelaico, acido succinico, acido traumatico, acido muconico, acido cromoglicico, acido tartarico, acido aspartico, acido glutammico, acido oleico, acido laurico, acido miristico, acido stearico, D- o L-lipoico, L-carnitina, L-acetilcarnitina, acido tropico.

Con il termine "acidi farmaceuticamente accettabili" si intendono ad esempio acido cloridrico, bromidrico, solforico, fosforico, acetico, lattico, gluconico, citrico, glucuronico, fumarico, maleico, benzoico.

Con il termine "basi farmaceuticamente accettabili" si intendono ad esempio idrossidi di metalli alcalini e alcalino-terrosi o metalli di transizione quale ad esempio zinco, di ammonio, di- o tri-alchilammine, tetraalchilammonio, N-(2-idrossietil)dimetilammonio, colina o amminoacidi quali la lisina.

Con il termine "enantiomeri e diastereoisomeri


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)

dei composti di formula (I) e miscele di essi" si intendono inclusi anche i relativi racemati e miscele racemiche.

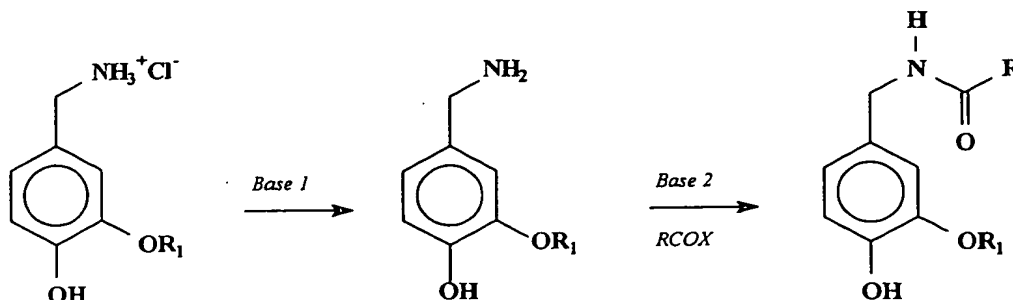
Un ulteriore oggetto della presente invenzione sono i composti di formula (I) in cui Y è un gruppo saccaridico.

Preparazione dei composti di formula (I)

I composti di formula (I) possono essere preparati secondo metodi noti, quali quelli descritti nella domanda di brevetto PCT pubblicata WO 96/18391 (LIFEGROUP S.p.A.), che è qui incorporata per riferimento.

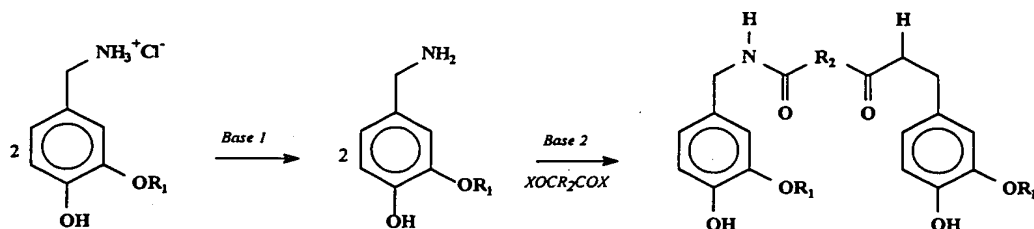
In particolare, la sintesi delle amidi di acidi mono e dicarbossilici con ammine a struttura vanillinaminica può essere condotta secondo uno dei seguenti schemi generali:

Schema Ia per monoamidi



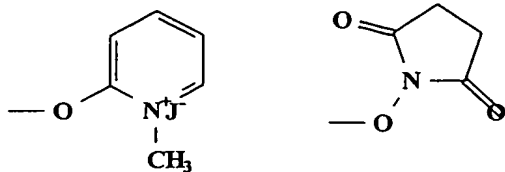

Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALEO 525
 (In proprio e per gli altri)

• Schema Ib per diamidi



Base 1 e Base 2 uguali o diverse tra loro possono essere scelte tra le comuni basi organiche o inorganiche e preferibilmente ma non limitatamente tra Na_2CO_3 , NaHCO_3 , K_2CO_3 , KHCO_3 , MgCO_3 , NaOH , KOH , Li_2CO_3 , LiOH , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, $\text{Ba}(\text{OH})_2$, trimetilammina, trietilammina, tributilammina, 4-metilmorfolina, tetrametilammonio idrossido, tetrabutilammonio idrossido, piridina, picolina.

R-COX e $\text{XOC-R}_2\text{-COX}$ sono derivati reattivi degli acidi carbossilici quali alogenuri, esteri, anidridi e preferibilmente ma non limitatamente X in questo caso può essere $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-C}_2\text{H}_5$, $-\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-NO}_2$, $-\text{O-CH}_2\text{-CF}_3$, $-\text{O-CO-O-C}_2\text{H}_5$, $-\text{O-CO-O-C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{O-CO-O-CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{O-CO-O-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$, oppure



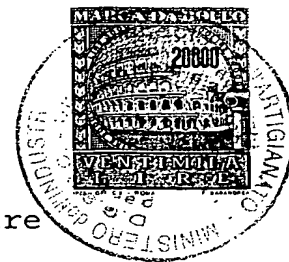
Le reazioni di cui agli schemi Ia e Ib possono essere condotte nei comuni solventi utilizzati nella sintesi chimica e preferenzialmente ma non limitatamente in acqua, dimetil solfossido, dimetilformamide, dimetilacetamide, dietilacetamide, N-metilpirrolidone, piridina, tetraidrofurano, metiltetraidrofurano, tert-butilmetiletere, diisopropiletere, dietiletere, acetato di etile, acetato di metile, acetato di butile, toluene, etere di petrolio, acetone, xilene, metiletilchetone, metilisobutilchetone, acetonitrile, propionitrile, 1,2-dicloroetano, diclorometano, cloroformio, 1,1,2-tricloroetilene, 1,1,1-tricloroetano, 1,2-dimetossietano, cicloesano oppure miscele di questi.

Le reazioni di cui agli schemi Ia e Ib possono essere condotte a temperature comprese tra -35°C e $+100^{\circ}\text{C}$ e preferibilmente tra -20°C e $+40^{\circ}\text{C}$ per un tempo variabile tra 10min. e 48h e preferibilmente tra 30 minuti e 6h.

Qualora l'acido carbossilico venga fatto reagire in forma libera, la reazione verrà condotta ad alte temperature oppure in presenza di agenti condensanti quali ad esempio dicicloesil carbodiimide o derivati.

Qualora sul substrato amminico o carbossilico


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

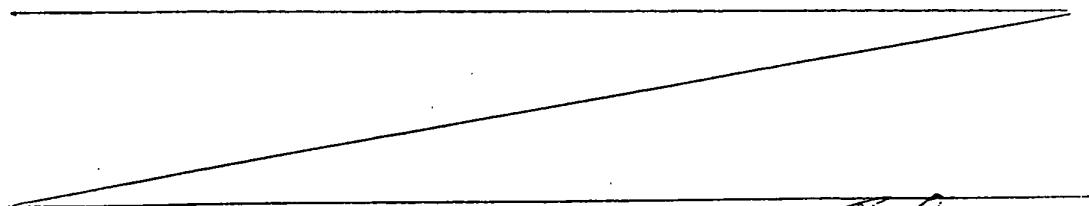


fossero presenti dei gruppi che possano influire sulla reazione di condensazione, quali ad esempio gruppi idrossile, ammino o carbossile, tali gruppi potranno essere protetti mediante opportuni gruppi protettivi noti all'esperto del ramo.

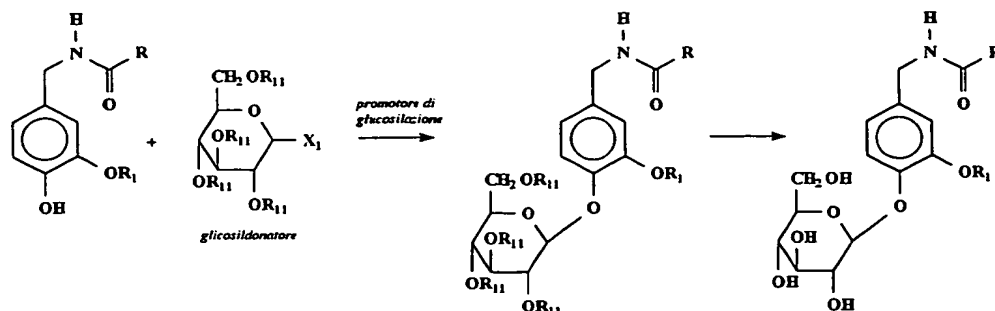
I composti di formula (I) in cui Y è un gruppo saccaridico possono essere preparati dai corrispondenti composti in cui Y è idrogeno secondo reazioni note, quali ad esempio quelle descritte nella domanda di brevetto PCT pubblicata WO 95/25736 (LIFEGROUP S.p.A.).

In particolare, la sintesi dei derivati glicosidici rivendicati con la definizione dei gruppi Y viene condotta coniugando i residui monosaccaridici alle amidi, ottenute secondo gli schemi Ia e Ib, utilizzando metodi comunemente adottati nella pratica di sintesi chimica di -O-glicosidi a livello di laboratorio e/o di produzione industriale e preferenzialmente, ma non limitatamente, secondo lo schema di seguito riportato.

- Schema II per la sintesi di glicosidi:



Dr. **Rinaldo FERRECCIO**
N. iscriz. **ALEO 525**
(In proprio e per gli altri)



Le reazioni di glicosilazione vengono condotte a temperature comprese tra -80°C e $+60^{\circ}\text{C}$ e preferibilmente tra -30°C e $+20^{\circ}\text{C}$ in solventi polari aprotici e preferibilmente ma non limitatamente in acetonitrile, nitrometano, tetraidrofurano, metiltetraidrofurano, diclorometano, propionitrile, dietiletere, diisopropiletere, dimetossietano, 1,1,1-tricloro etano, acetone o loro miscele.

Il glicosil-donatore è un derivato del monosaccaride che deve essere legato all'amide dove R_{11} rappresenta un gruppo protettore degli OH scelto, preferibilmente ma non limitatamente, tra acetile, benzile o benzoile. X rappresenta un gruppo uscente; in questo caso X è, preferibilmente ma non limitatamente, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{S}-\text{CH}_3$, $-\text{S}-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{S}-\text{CS}-\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5$, tricloroacetamidato, acetato.

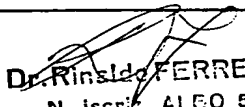
Il promotore di glicosilazione viene preferenzialmente ma non limitatamente scelto tra i sali di argento quali il solfato, il carbonato, il perclorato, il salicilato, il trifluorometansulfonato

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

oppure miscele di sali quali $\text{SnCl}_4\text{-AgClO}_4$, $\text{BiCl}_3\text{-AgClO}_4$, $\text{SbCl}_3\text{-AgClO}_4$ eventualmente combinati con iodosobenzene oppure stagno(II) trifluorometansulfonato, acido trifluorometansulfonico, N-iodosuccinimide combinata con acido trifluorometansulfonico, trimetilsililtrifluorometansulfonato oppure boro trifluoruroeterato.

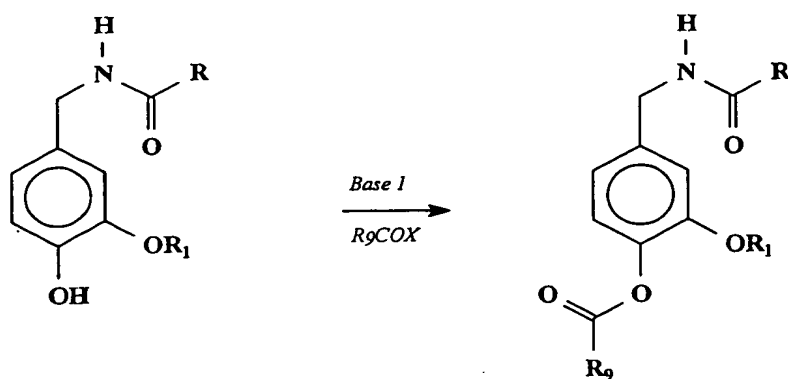
I derivati α -glicosidi non ottenibili con rese soddisfacenti per glicosilazione diretta possono essere ottenuti dai corrispondenti β -glicosidi per reazione di anomerizzazione utilizzando ad esempio un sistema reagente costituito da magnesio bromuro etileterato e tetraalogenuri di titanio [Chemistry Letters (1997), 7:625-626].

I gruppi protettori R_{11} vengono agevolmente rimossi dopo la reazione di glicosilazione ad esempio per via idrolitica o idrogenolitica: il gruppo acetato può essere eliminato a temperatura ambiente in metanolo o etanolo anidri in presenza di quantità catalitiche di un alcossido, mentre i gruppi benzile e benzoile possono essere rimossi rispettivamente per trattamento con H_2 gas in presenza di catalizzatori quale Pd/C o per riduzione elettrolitica in solventi quali alcoli o acidi organici.

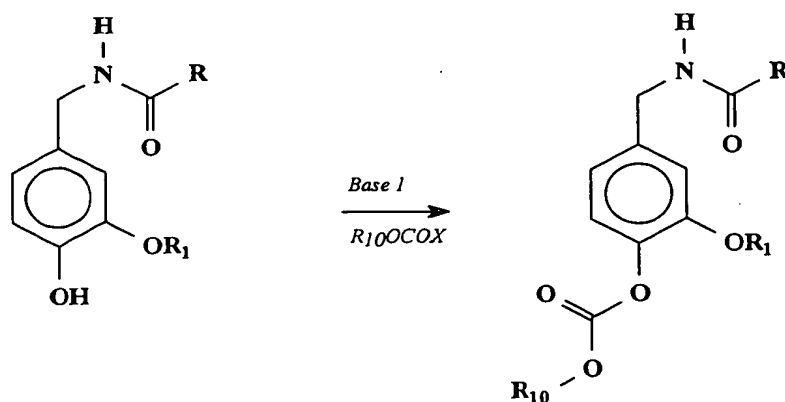

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 526
(In proprio e per gli altri)

Le sintesi dei derivati esteri e carbonati rivendicati con la definizione dei gruppi Y vengono condotte a partire dalle amidi ottenute secondo gli schemi Ia e Ib, preferenzialmente ma non limitatamente secondo i seguenti schemi generali:

- Schema IIIa per le sintesi di esteri

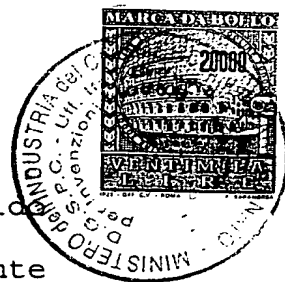


- Schema IIIb per la sintesi di carbonati



Base 1 ha il significato già descritto per gli schemi Ia e Ib.

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)



R_9 -COX è il derivato reattivo di un acido carbossilico e preferenzialmente ma non limitatamente un alogenuro o un'anidride;

R_{10} -O-CO-X è un aloformiato e preferibilmente cloroformiato;

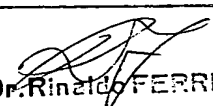
sia R_9 , che R_{10} possono portare gruppi funzionali protetti da sbloccare opportunamente per ottenere il prodotto finale della reazione, oppure possono portare gruppi funzionali reattivi da utilizzare per ulteriori sostituzioni al fine di ottenere il prodotto finale desiderato.

Le reazioni di cui agli schemi IIIa e IIIb vengono condotte in solventi selezionati tra quelli già descritti per la reazione degli schemi Ia e Ib con condizioni di temperatura e tempi analoghi.

Attività biologica

I composti dell'invenzione sono stati saggiati usando test biochimici, in vitro ed in vivo descritti nei seguenti esempi biologici. I composti sono identificati in base al numero dell'esempio riportato nella successiva parte di esempi chimici.

Esempio A



Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

Effetto di molecole N-AVAM sul binding dei
ligandi sintetici del recettore cannabinoide CB1.

Metodo:

Sono state utilizzate cellule di neuroblastoma di topo N18TG2 che esprimono selettivamente il recettore cannabinoide CB1 e cellule basofile leucemiche di ratto RBL-2H3+ che esprimono selettivamente il recettore cannabinoide CB2. Le cellule sono state coltivate come precedentemente descritto [L. Faci ed altri. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92: 3376-3380; T. Bisogno ed altri (1997) J. Biol. Chem., 272: 3315-3323]. [³H]SR141716A (55Ci/mmol) è stato fornito da Amersham; [³H]WIN55,212-2 (43Ci/mmol) è stato fornito da NEN. I saggi di binding sono stati effettuati con membrane di dette cellule risospese in tampone Tris 50 mM pH 7,0; 2,5 mM MgCl₂; EDTA 0,8 mM; albumina di siero bovino (BSA) 0,05%; etanolo 0,01% e in presenza di 100 µM fenil-metil-sulfonilfluoruro (PMSF-Sigma) utilizzando come ligando 300 pM rispettivamente di [³H]SR141716A e di [³H]WIN55,212-2.


Le membrane venivano incubate per 90' a 30°C, filtrate su filtrini di microfibra di vetro (GFC-Whatman) e la radioattività rilevata per scintillazione liquida. Il binding specifico era


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscritt. ALBO 526
(In proprio e per gli altri)

calcolato usando o 10 μM SR141716A o 10 μM HU-210 (ottenuto dal Prof. R. Mechoulam, Hebrew Univeristy Jerusalem). I valori di K_i venivano calcolati con l'equazione Chang-Prusoff ed espressi in concentrazione μM .

Risultati:

composti saggiati	recettore CB1 cellule N18TG2+ lig. [^3H]SR141716A	recettore CB2 cellule RBL-2H3+ lig. [^3H]WIN55,212-2
composto esempio n 1	$1,64 \pm 0,36$	$> 15 \mu\text{M}$
composto esempio n 2	$1,75 \pm 0,35$	$> 15 \mu\text{M}$
composto esempio n 3	$1,50 \pm 0,29$	$> 15 \mu\text{M}$
composto esempio n.4	$1,20 \pm 0,28$	$> 15 \mu\text{M}$
Capsaicina	$> 10 \mu\text{M}$	$> 15 \mu\text{M}$
Anandamide	$1,91 \pm 0,31$	$0,03 \pm 0,0029$
N-palmitoil etanolamina	$> 10 \mu\text{M}$	$0,001 \pm 0,0006$


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (in proprio e per gli altri)

Esempio B

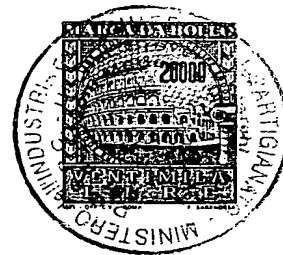
Effetto di molecole N-AVAM sulla stimolazione di ciclico AMP (c-AMP) da parte della forskolina.

Metodo:

I saggi sono stati effettuati con l'obiettivo di verificare se il binding delle molecole N-AVAM al recettore CB2 avesse significato funzionale. I dosaggi di c-AMP sono stati effettuati su cellule RBL-2H3+ confluenti in capsule di petri a 6 pozzetti (Falcon); le cellule erano stimulate per 10' a 37°C con 1 μ M di forskolina (Fluka) in 400 μ l di terreno senza siero contenente 20 mM Hepes, 0,1 mg/ml BSA e 0,1 mM 1-metil-3-isobutilxantina (Sigma) e, o etanolo o anandamide o molecole N-AVAM più SR141716A. Dopo incubazione le cellule erano estratte e i livelli cAMP venivano valutati con un apposito kit dell'Amersham secondo la procedura della casa produttrice. I dati espressi in IC_{50} , μ M.




Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)



Risultati:


composti saggiati	cellule RBL-2H3+ IC ₅₀ , μ M
anandamide	3,2
composto esempio n° 1	1,6
composto esempio n° 1 + SR141716A (0,5 μ M)	>20,0
composto esempio n° 2	1,8
composto esempio n° 3	1,3

Esempio C

Effetto di molecole N-AVAM sulla proliferazione di cellule umane di carcinoma della mammella.

Metodo:

Sono state utilizzate cellule di carcinoma umano della mammella MCF-7, e EFM-19 e T-47D. Le cellule sono state coltivate ed i saggi sono stati condotti come precedentemente descritto [materiali e metodi L. De Petrocellis ed altri (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 95: 8375-8380]. L'attività sulla proliferazione delle cellule tumorali è stata valutata sulla base dell'incorporazione di [³H]Timidina. I risultati sono stati espressi come IC₅₀ in μ M.


Dr. Renato FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (In proprio e per gli altri)

Risultati:

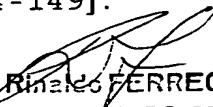
composti saggiati	cellule		
	MCF-7	EFM-19	T-47D
	IC ₅₀ , μ M		
Anandamide	0,5	1,5	1,9
composto esempio n 1	1,6	0,7	1,6
composto esempio n 2	2,1	1,0	0,8
composto esempio n 3	0,4	0,5	0,3

Esempio D

Effetto di molecole N-AVAM sulla proliferazione di cellule umane di carcinoma della prostata.

Metodo:

Sono state utilizzate cellule di carcinoma umano della prostata DU145. Le cellule sono state coltivate come precedentemente descritto [materiali e metodi T. Janssen ed altri (1996) Cancer, 77: 144-149].


Dr. Rinaudo FERRECCIO
 N. Iscriz. ALEO 525
 (In proprio e per gli altri)

Le cellule erano quindi incubate in piastra a 96 pozzetti con "Eagle's Minimal Exential Medium" (MEM) addizionato con il 10% di siero bovino fetale deprivato di steroidi endogeni. Dopo 24 ore il mezzo veniva rimosso e sostituito con un mezzo contenente Prolattina (PRL) (1 mIU/ml di mezzo). Lo strato di cellule veniva tripsinizzato e le cellule venivano contate con emocitometro.

I risultati sono stati espressi come IC_{50} in μM .

Risultati:

composti saggiati	cellule DU-145 IC_{50} , μM
Anandamide	0,5
Anandamide + SR141716A (0,5 μM)	> a 20,0
composto esempio n° 1	0,2 - 0,3

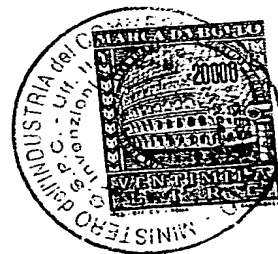
Esempio E

Effetto di molecole N-AVAM sull'edema da carragenina.

Metodo:

Con lo scopo di valutare gli effetti delle molecole N-AVAM sulla iperreattività delle cellule nervose sensitive è stata utilizzata la metodica precedentemente descritta [materiali e metodi S.

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)



Esempio F

Effetto di molecole N-AVAM sulla iperalgesia meccanica da carragenina.

Metodi:

Con l'obiettivo di valutare l'effetto delle molecole N-AVAM sulla iperalgesia conseguente alla iperreattività delle cellule nervose sensitive è stata utilizzata la metodica precedentemente descritta [materiali e metodi S. Mazzari ed altri (1996) Europ. J. Pharmacol., 300: 227-236].

I composti saggiati sono stati somministrati per via orale sospesi in soluzione fisiologica addensata con CMC. I risultati sono stati espressi come per cento di variazione del peso applicato necessario a determinare retrazione della zampa.

Risultati:

composti saggiati	tempi di rilevazione in min.					
	0	60	120	180	240	300
veicolo	100	71	64	50	48	52
palmitoiletanolamide (10 mg/kg, os)	100	82	80	76	64	66
composto esempio n° 1 (5 mg/kg, os)	100	80	72	65	58	64
palmitoiletanolamide (10 mg/kg, os) + composto esempio n° 1 (5 mg/kg, os)	100	88	90	92	96	100

Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscri. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)


Da quanto precede risulta che i composti della presente invenzione possono essere usati per la preparazione di un medicamento per uso umano e animale, mediante somministrazione orale, parenterale, topica o transdermica.

Come sopra mostrato, i composti della presente invenzione possono anche essere somministrati in associazione con composti ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi, con effetto sinergico.

I composti della presente invenzione possono essere usati per la cura di patologie caratterizzate e/o sostenute da fenomeni di sensitizzazione - NGF-indotti - di fibre nervose afferenti, detti fenomeni di sensitizzazione essendo in grado a loro volta di determinare iperreattività cellulare e tissutale a livello distrettuale. Pertanto i composti di formula (I) possono essere usati per il trattamento delle patologie caratterizzate da un elevato grado di iperreattività cellulare e tissutale sostenuto da livelli sopramassimali di NGF.

Con la definizione sopra riportata si intendono, ad esempio, le seguenti patologie:

- a livello del Sistema Nervoso Centrale, sclerosi multipla, sclerosi laterale amiotrofica,



Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

epilessia, neurolatirismo, trauma cranico, trauma spinale, ictus cerebrale, attacchi ischemici transitori, corea di Huntington, morbo di Alzheimer, demenza primaria, demenza associata con patologie virali, patologie citolesive distrettuali associate allo stress, patologie da proliferazione e disseminazione tumorale associata allo stress, sindrome da astinenza da eroina;

- a livello del Sistema Nervoso Periferico, neuropatie periferiche, autonome e somatiche, di origine traumatica, compressiva, tossica, dismetabolica, degenerativa;

- a livello dermico-epidermico e degli annessi cutanei, psoriasi, dermatite atopica, eliodermatite, cheratosi actinica, dermatite seborroica, cicatrizzazione ipertrofica e cheloide, scleroderma, dermatomiosite, polimiosite, penfigo, penfigoide, epidermolisi bullosa, sindrome orticaria-angioedema, balaniti, balanopostiti, vulviti, vestiboliti vulvari, follicoliti, seborrea, alopecia, alopecia seborroica, granulomi ungueali;

- a livello mucosale, alterazioni mucosali a carattere infiammatorio della bocca e delle gengive, infiammazioni croniche delle mucose gastrointestinali, patologie sostenute da


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (In proprio e per gli altri)

iperreattività della mucosa vescicale e dei dotti urinari, vaginiti, vulvo-vaginiti;

- a livello oculare, lesioni corneali traumatiche ed ulcerative, cheratocongiuntivite secca, sindrome di Sjogren, oftalmia simpatica, uveite autoimmune, uveoretinite, congiuntivite allergica, penfigoide cicatriziale oculare, malattie retiniche anosso-ischemiche, glaucoma;


- a livello respiratorio, fibrosi polmonare interstiziale, asma bronchiale, broncopatia cronica ostruttiva con componente asmatica, rinite allergica;

- a livello cardiovascolare, ripèrusione cardiaca, aterosclerosi, attacchi cardiaci, ristenosi coronarica dopo angioplastica;

- a livello osteoarticolare, artrite cronica, artrite reumatica, artrite psoriatice, artrite eritromatosa, lupus sistemico o discoide, malattie da alterazione delle cartilagini articolari, osteoporosi;

- a livello del sistema nocicettivo, patologie con alterazione della nocicezione.

Inoltre, i composti di formula (I) possono essere usati come agenti bloccanti la proliferazione di cellule tumorali, dipendente dalla presenza del recettore della prolattina (rPRL), come ad esempio


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)




cellule umane di tumore della mammella e della prostata.

E' quindi un oggetto della presente invenzione l'uso dei composti della presente invenzione, da soli o in associazione con un composto ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi, per la preparazione di un medicamento per il trattamento delle patologie sopra elencate.

La dose terapeuticamente efficace varierà in dipendenza del modo di somministrazione scelto, della gravità della patologia e dell'età, del peso e delle condizioni di salute del paziente. Dosi terapeutiche accettabili di un composto secondo la presente invenzione potranno variare in generale da 0.1 a 20 mg/kg al giorno, con un regime di somministrazione che potrà prevedere una o più dosi giornaliere e per un tempo variabile, come verrà determinato dal medico curante in base alla sua esperienza.

Le composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione possono comprendere come principio attivo uno o più composti di formula (I) in miscela con opportuni eccipienti e diluenti farmaceuticamente accettabili.

Secondo un ulteriore oggetto della presente invenzione, le composizioni farmaceutiche possono


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(in proprio e per gli altri)

comprendere uno o più composti di formula (I) unitamente ad uno o più composti a struttura ALIAMmidica, in miscela con opportuni eccipienti e diluenti farmaceuticamente accettabili. Con il termine "composti a struttura ALIAMmidica" si intendono ad esempio i composti descritti nella domanda di brevetto EP 0 550 006 nella sezione intitolata "DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION", che è qui incorporata per riferimento.


Alternativamente, i composti di formula (I) e le ALIAMmidi potranno essere preparati in formulazioni farmaceuticamente distinte, che potranno essere usate per la somministrazione contemporanea, sequenziale o separata dei due principi attivi.

In particolare, le formulazioni per somministrazione per via i.v., s.c. o i.m. comprenderanno soluzioni o sospensioni adatte ad essere iniettate.

Le formulazioni per via orale comprenderanno polveri, granulati, tavolette, pillole o capsule.

Le formulazioni per via topica comprenderanno soluzioni, gel o unguenti.

Le formulazioni farmaceutiche vengono preparate in accordo alle normali metodiche usate in tecnica farmaceutica (miscelazioni, dissoluzioni,


Dr. ENZO FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

liofilizzazioni, micronizzazioni, ecc.), che quindi non verranno descritte nei dettagli.

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è un kit per la somministrazione simultanea, sequenziale o separata, comprendente uno o più composti di formula (I), come definita nella rivendicazione 1, e un composto ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi in opportune formulazioni farmaceutiche.

La presente invenzione è ora ulteriormente descritta per mezzo dei seguenti esempi chimici e di composizione farmaceutica.


ESEMPI CHIMICI

Esempio n. 1

Preparazione di N-(4-idrossi-3-metossibenzil) oleoilamide

2,83 g di acido oleico e 1,10 g di 4-metilmorfolina vengono solubilizzati in 30 ml di dimetilformamide a 0°C; vengono quindi aggiunti 1,44 g di isobutilcloroformiato e la soluzione viene agitata a 0°C per 20'.

La soluzione così ottenuta viene addizionata di 1,90 g di 4-idrossi-3-metossibenzilammina cloridrato e 1,10 g di 4-metilmorfolina e mantenuta in agitazione per una notte a 0°C. La miscela risultante


Dr. Riccardo FERRECCIO
N. Isc. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)


viene quindi addizionata di 90 ml di acqua ed estratta 3 volte con 40 ml di etilacetato. Le fasi organiche vengono lavate 2 volte con 20 ml di acido cloridrico 1N e 2 volte con 15 ml di acqua; vengono quindi riunite, decolorate con carbone animale, anidrificate con sodio solfato anidro ed evaporate sottovuoto.

Il residuo viene purificato mediante cromatografia preparativa in colonna di gel di silice, usando come eluente una miscela di esano/etileacetato/acido acetico in rapporti 70:30:0,5; le frazioni di eluato contenenti il prodotto puro vengono riunite, evaporate a secco ed il residuo viene infine essiccato in alto vuoto.

La resa della reazione è di circa l'88%.

Le caratteristiche chimico-fisiche del prodotto N-(4-idrossi-3-metossibenzil)oleoilamide sono le seguenti:

- Stato fisico: polvere biancastra amorfa
- Formula bruta: $C_{26} H_{43} NO_3$
- Peso molecolare: 417,64
- Analisi elementare: C=74,78%; H=10,38%;
N=3,35%; O=11,49%
- Solubilità in solv. org.: >10 mg/ml in DMSO;
>10mg/ml in etanolo


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)



- Solubilità in acqua: poco solubile
- TLC: eluente toluene/etanolo/acido acetico 65: 30: 5; $R_f=0,66$

Esempio n. 2

Preparazione di N-(4-idrossi-3-metossibenzil)palmitoamide

0,475 g di 4-idrossi-3-metossibenzilammina cloridrato e 0,556 g di 4-metilmorfolina vengono solubilizzati in 10 ml di dimetilformamide a 0°C. Una soluzione di 0,605 g di palmitoilcloruro in 5 ml di cloroformio viene aggiunta lentamente goccia a goccia nell'arco di 30' sotto continua agitazione.

La miscela risultante viene mantenuta in agitazione per una notte a 0°C e quindi viene addizionata di 25 ml di acqua ed estratta 3 volte con 10 ml di acetato di etile.

Le fasi organiche vengono lavate 2 volte con 5 ml di acido cloridrico 1N e 2 volte con 4 ml di acqua; vengono quindi riunite, decolorate con carbone animale, anidrificate con sodio solfato anidro ed evaporate sottovuoto.

Il residuo viene cristallizzato da 7 ml di etere ter-butyl-metilico; il prodotto, separato per filtrazione, viene lavato 2 volte con 3 ml di etere


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

ter-butyl-metilico freddo ed infine essiccato in alto vuoto.

La resa della reazione è di circa il 91%.

Le caratteristiche chimico-fisiche del prodotto N-(4-idrossi-3-metossibenzil) palmitoilamide sono le seguenti:

- Stato fisico: polvere cristallina bianca
- Formula bruta: $C_{24}H_{41}NO_3$
- Peso molecolare: 391,60
- Analisi elementare: C=73,61%; H=10,55%; N=3,58%; O=12,26%
- Solubilità in solv. Org.: >10 mg/ml in DMSO; >10 mg/ml in etanolo
- Solubilità in acqua: poco solubile
- TLC: eluente toluene/etanolo/acido acetico 65:30:5; Rf=0,65

Esempio n. 3

Preparazione di N-(4-idrossi-3-metossibenzil)arachidonoil-amide

304,5 mg di acido arachidonico e 110 mg di 4-metilmorfolina vengono solubilizzati in 5 ml di dimetilformamide anidra a 0°C in atmosfera di N_2 .

Vengono quindi aggiunti 144 mg di isobutil cloroformiato e la soluzione viene agitata a 0°C per 20'. La miscela così ottenuta viene addizionata di


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)

190 mg di 4-idrossi-3-metossibenzilamina cloridrato e 110 mg di 4-metilmorfolina; viene quindi mantenuta in agitazione per 1 notte a 0°C. La miscela risultante viene quindi addizionata di 12 ml di acqua fredda ed estratta 3 volte con 4 ml di etile acetato.

Le fasi organiche vengono lavate 2 volte con 2 ml di acido cloridrico 1N, 2 volte con 2 ml di acqua, 2 volte con 2 ml di soluzione NaHCO₃ 5% e 2 volte con 2 ml di acqua; vengono quindi riunite, decolorate con carbone animale, anidrificate con sodio solfato anidro e portate a secchezza sottovuoto.

Il residuo viene purificato mediante cromatografia preparativa in colonna di gel di silice, usando come eluente una miscela di esano/etile acetato/etanolo 72: 28:2. Le frazioni di eluato contenenti il prodotto puro vengono riunite, evaporate a secco ed il residuo viene infine essiccato in alto vuoto e conservato sotto N₂ a -20°C.

La resa della reazione è di circa l'82%.

Le caratteristiche chimico-fisiche del prodotto N-(4-idrossi-3-metossibenzil) arachidonoilamide sono le seguenti:

- Stato fisico: polvere biancastra amorfa
- Formula bruta: C₂₈H₄₁NO₃


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

- Peso molecolare: 439,64
- Analisi elementare: C=76,5%; H=9,4%;
N=3,19%; O=10,92%
- Solubilità in sol. org.: >10mg/ml in DMSO
>10mg/ml in etanolo
- Solubilità in acqua: poco solubile
- TLC: eluente toluene/etanolo/acido acetico 65:30:5;
Rf=0,68

Esempio n. 4

Preparazione di N,N'-bis(4-idrossi-3-metossibenzil)nonandiamide

310 mg di 4-idrossi-3-metossibenzilamina base libera vengono solubilizzati in 7 ml di dimetilformamide anidra a 0°C in atmosfera di N₂.

Vengono quindi aggiunti nell'ordine 220 mg di 4-metilmorfolina e 225 mg di azelaoil cloruro sciolto in 3ml di cloroformio, lentamente goccia a goccia nell'arco di 30' sempre a 0°C.

La miscela risultante viene agitata a 0°C per 2 ore, quindi a temperatura ambiente per 6 ore. 20 ml di acqua fredda vengono aggiunti e la miscela viene estratta 3 volte con 10 ml di etile acetato.

Le fasi organiche vengono lavate 2 volte con 5 ml di acido cloridrico 1N, 2 volte con 5 ml di acqua, 2 volte con 5 ml di soluzione NaHCO₃ 5% e 2 volte con


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(in proprio e per gli altri)




5 ml di acqua; vengono quindi riunite, decolorate con carbone animale, anidrificate con sodio solfato anidro e portate a secchezza sottovuoto.

Il residuo viene purificato mediante cromatografia preparativa in colonna di gel di silice, usando come eluente una miscela di esano/etile acetato/etanolo in gradiente dalla composizione 70:30:5:0.1 a 30:55:15:0.1. Le frazioni di eluato contenenti il prodotto puro vengono riunite, evaporate a secco ed il residuo viene infine essiccato in alto vuoto.

La resa della reazione è di circa il 82%.

Le caratteristiche chimico-fisiche del prodotto N,N'-bis(4-idrossi-3-metossibenzil) nonandiamide sono le seguenti:

- Stato fisico: polvere biancastra amorfa
- Formula bruta: $C_{25}H_{34}N_2O_6$
- Peso molecolare: 458.56
- Analisi elementare: C=65,48%; H=7,14%; N=6.11%; O=20.94%
- Solubilità in sol. org.: >10mg/ml in DMSO
- Solubilità in acqua: poco solubile
- TLC: eluente toluene/etanolo/acido acetico 65:30:5; $R_f=0,37$


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

ESEMPI DI FORMULAZIONI FARMACEUTICHEEsempio n.5 - compresse

Ogni compressa contiene:

composto esempio n.1	30 mg
lattosio	85 mg
amido di mais	75 mg
talco	6 mg
magnesio stearato	2 mg
carbossimetilcellulosa	2 mg

Esempio n.6 - capsule di gelatina molle


Ogni capsula contiene:

composto esempio n.2	100 mg
olio vegetale	100 mg
lecitina di soja	20 mg
gelatina	55 mg
glicerina	15 mg
colorante E 127	0.1 mg

Esempio n.7 - compresse a due principi attivi

Ogni compressa contiene:

composto esempio n.3	30 mg
palmitoiletanolammide (micronizzata)	30 mg
glicina	70 mg
mannitolo	100 mg
cellulosa microcristallina	18 mg


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

magnesio stearato 2 mg

Esempio n.8 - doppio opercolo (A+B) di gelatina

ogni opercolo di tipo A contiene:

composto esempio n.1 50 mg

(comicronizzato con lattosio)

lattosio 50 mg

saccarosio 93 mg

amido di mais 31 mg

magnesio stearato 35 mg

povidone 26 mg

potassio fosfato monobasico 20 mg

cellulosa acetato trimellitato 95 mg

Ogni opercolo di tipo B contiene:

palmitoiletanolamide 100 mg

(micronizzata)

saccarosio 93 mg

amido di mais 31 mg

magnesio stearato 35 mg

povidone 26 mg

potassio fosfato monobasico 20 mg

cellulosa fosfato trimellitato 95 mg

Esempio n.9 - fiale liofilizzate

Ogni fiala liofilizzata contiene:

composto esempio n.3 50 mg

(comicronizzato con mannitolo)


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

mannitolo 75 mg

Ogni fiala solvente contiene:

lecitina di soja 30 mg

acqua bidistillata apirogena q.b. a 2 ml

Esempio n.10 - aerosol

Ogni bomboletta per aerosol dosato contiene:

composto esempio n.2 10 mg

sorbitantrioleato 50 mg

tricloromonofluorometano 200 mg

diclorodifluorometano 200 mg

Esempio n.11 - supposte con doppio principio

attivo

Ogni supposta contiene:

composto esempio n.3 100 mg

dietanolamide dell'acido azelaico 100 mg

gliceridi semisintetici 2 g

Esempio n.12 - gel vaginale con doppio principio

attivo

100 g di gel vaginale contengono:

composto esempio n.2 150 mg

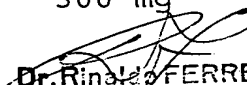
dietanolamide dell'acido azelaico 1 g

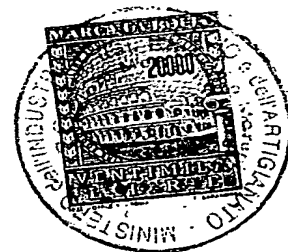
acido ialuronico sale sodico 100 mg

sodio alginato 2.5 g

glicerina 5 g

bronopol 300 mg


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALEO 526
(in proprio e per gli altri)



acqua demineralizzata q.b. a 100 g

Esempio n.13 - crema dermatologica

100 g di crema contengono:

composto esempio n.4 200 mg

sorbitan monostearato 500 mg

poliossietilensorbitan monostearato 3 g

acido stearico 3 g

olio di vaselina 15 g

estere metilico dell'acido

para-ossibenzoico 0.2 g

estere etilico dell'acido

para-ossibenzoico 0.05 g

acqua demineralizzata q.b. a 100 g

Esempio n.14 - lozione per uso tricologico

100 g di lozione per uso tricologico contengono:

composto esempio n.4 1000 mg

dietanolamide dell'acido

trans-traumatico 200 mg

glicole propilenico 25 g

alcool etilico 50 g


acqua demineralizzata q.b. a 100 g

Esempio n.15 - unguento per uso oculistico

100 g di unguento contengono:

composto esempio n.2 500 mg

vaselina filante q.b. a 100 g


Dr. Rinaldo PERRECCIO
N. iscriz. ALEO 525
(in proprio e per gli altri)

Esempio n.16 - collutorio per uso odontoiatrico

100 g di collutorio contengono:

composto esempio n.3	700 mg
dietanolamide dell'acido azelaico	1 g
glicerina	40 g
alcool etilico	20 g
aroma di menta	2 g
saccarina	100 mg
metile p-ossibenzoato	0.3 g
etile p-ossibenzoato	0.08 g
acqua demineralizzata q.b. a	100 g

Esempio n.17 - gel per uso odontoiatrico

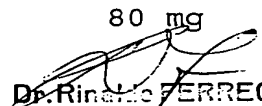
100 g di gel contengono:

composto esempio n.1	1200 mg
acido ialuronico sale sodico	200 mg
carbomer	300 mg
sorbitolo	20 g
metile p-ossibenzoato	0.2 g
etile p-ossibenzoato	0.05 g
aroma di menta	1 g
acqua demineralizzata q.b. a	100 g

Esempio n.18 - olio gel fluido per uso otologico

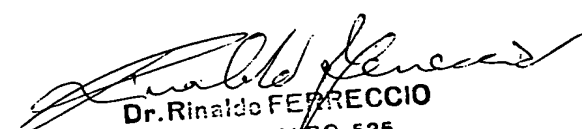
100 g di olio gel fluido contengono:

composto esempio n.2	150 mg
geloil	80 mg


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALEO 525
(In proprio e per gli altri)

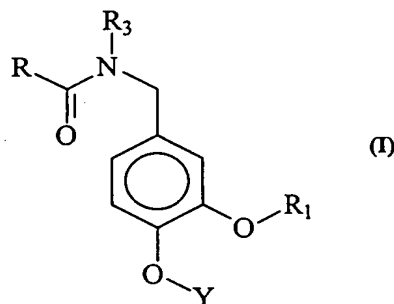
olio vegetale

q.b. a 100


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)

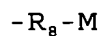
RIVENDICAZIONI

1. Uso di derivati di formula generale (I):




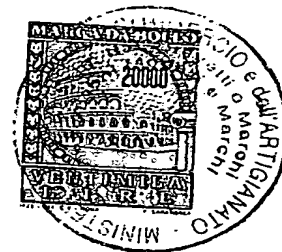
in cui:

- a) R_1 è scelto nel gruppo comprendente idrogeno, C1-C10 alchile, lineare o ramificato, saturo o insaturo, C3-C7 cicloalchile o C7-C10 arilalchile;
- b) Y è scelto nel gruppo comprendente:
- b1. idrogeno;
- b2. un gruppo di formula



dove $-R_8-$ è un radicale C2-C6 alchilenico saturo, lineare o ramificato, e M è scelto nel gruppo comprendente $-NH_2$, acilammino, $-NHR_6$, $-NR_4R_5$, $^{\oplus}NR_4R_5R_6Z^-$, uguali o diversi fra loro, ed R_4 , R_5 ed R_6 , uguali o diversi fra loro, possono essere radicali C1-C7 alchilici, alchenilici o arilalchilici o R_4 ed R_5 possono formare un radicale cicloalchilico comprendente eventualmente eteroatomi quali -O- e - NR_{12} -, dove R_{12} è scelto tra idrogeno o un radicale alchilico, aralchilico o idrossialchilico


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (In proprio e per gli altri)



preferibilmente scelto tra $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ e Z^- è come sotto definito;

b3. un gruppo di formula




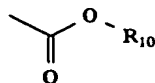
dove R_9 è un radicale C1-C10 alchilico, saturo o mono-insaturo, lineare o ramificato, o un radicale cicloalchilico, arilalchilico o eterociclico, eventualmente sostituito con uno o più gruppi $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}_6$, $-\text{NR}_4\text{R}_5$, $^-\text{NR}_4\text{R}_5\text{R}_6$, Z^- , uguali o diversi fra loro, detti gruppi R_4 , R_5 ed R_6 , uguali o diversi fra loro, essendo scelti nel gruppo comprendente radicali C1-C7 alchilici, alchenilici o aralchilici, o R_4 ed R_5 possono formare un radicale cicloalchilico che può comprendere uno o più eteroatomi quali $-\text{O}-$ e $-\text{NR}_{12}-$, dove R_{12} è scelto tra idrogeno o un radicale alchilico, aralchilico o idrossialchilico preferibilmente scelto tra $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ e Z^- è come sotto definito,

b4. un gruppo $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{P}(\text{OH})_2$,

b5. un residuo monosaccaridico legato con legame α - o β - glicosidico,

b6. un gruppo di formula


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. Iscriz. ALBO 525
 (In proprio e per gli altri)



dove R_{10} è un radicale C1-C10 alchilico o alchenilico, lineare o ramificato, saturo o insaturo, o un radicale cicloalchilico o aralchilico, eventualmente contenente da 1 a 5 eteroatomi uguali o diversi tra loro scelti tra -S- , -O- o -N- , ed eventualmente sostituiti con uno o più gruppi -OH , -NH₂ , -NH-CO-CH₃ , -COOH, >C=O , H₂N-CO-NH- , NH=C(NH₂)-NH- , -NO₂ , -OCH₃ , -Cl , -Br , -F , -J , -OPO₃H₂ , -OPO₂H₂ , -OSO₃H , -OSO₃H , -SH , -SCH₃ , -S-S- , -NHR₆ , -N R₄R₅ , -[⊕]NR₄R₅R₆ Z⁻ uguali o diversi fra loro, dove R₄, R₅ ed R₆ , uguali o diversi fra loro, possono essere radicali C1-C7 alchilici, alchenilici o aralchilici o R₄ ed R₅ possono formare un radicale cicloalchilico comprendente uno o più eteroatomi quali -O- e -NR₁₂-, dove R₁₂ è scelto tra idrogeno o un radicale alchilico, aralchilico o idrossialchilico preferibilmente scelto tra -CH₃, -C₂H₅, -CH₂-C₆H₅ o -CH₂CH₂OH e Z⁻ è come sotto definito,

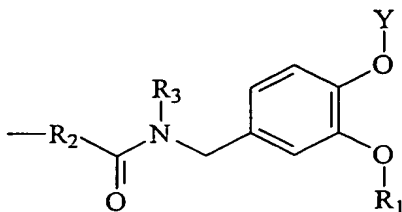
c) R₃ è scelto nel gruppo comprendente idrogeno o alchile lineare o ramificato;

d) R è:


Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALEO 525
 (In proprio e per gli altri)

d1. carbossile, $-\text{COOR}_7$, cicloalchile saturo o insaturo, alchile policiclico, arile, eteroarile, arilalchile o C1-C35 alchile, saturo o insaturo con da 1 a 6 doppi legami, lineare o ramificato, non sostituito o sostituito con uno o più residui scelti nel gruppo comprendente carbossile, $-\text{COOR}_7$, idrossile, alcossile, O-acilidrossile, chetoalchile, nitro, alogeno, $-\text{SH}$, alchiltio, alchilditio, ammino, mono- e di-alchilammino, N-acilammino, $-\text{NR}_4\text{R}_5\text{R}_6\text{Z}^-$, in cui R_4 , R_5 e R_6 , uguali o diversi tra loro, sono scelti nel gruppo comprendente C1-C7 alchile, C1-C7 alchenile, arilalchile e Z^- può essere l'anione di un acido inorganico o organico biologicamente compatibile e preferenzialmente scelto tra acido cloridrico, solforico, fosforico, metansulfonico, benzensulfonico, p-toluensulfonico, acetico, succinico, fumarico, lattico, gluconico, citrico, glucuronico, maleico o benzoico;

d2. un gruppo di formula



dove R_1 , R_3 e Y hanno i significati visti prima e R_2 può essere un legame semplice o un radicale C1-C34


Dr. Renato FERRECCIO
 N. iscriz. ALEO 525
 (in proprio e per gli altri)

alchilene, lineare o ramificato, saturo o insaturo con da 1 a 6 doppi legami, un radicale cicloalchilenico, saturo o insaturo, un diradiale arilico, aralchilico o eterociclico, non sostituiti o sostituiti con uno o più residui scelti nel gruppo comprendente carbossile, $-COOR_1$, idrossile, alcossile, O-acilidrossile, alchilcheto, nitro, alogeno, $-SH$, alchiltio, alchilditio, ammino, mono- e di-alchilammino, N-acilammino, cicloalchile saturo o insaturo, arile o eteroarile;

in cui R_1 è un gruppo C1-C20 alchilico lineare o ramificato o è un gruppo aralchilico, enantiomeri e diastereoisomeri dei composti di formula (I) e miscele di essi, sali dei composti di formula (I) con acidi e basi farmaceuticamente accettabili e loro solvati, per la preparazione di un medicamento in grado di attivare il recettore periferico CB1 dei cannabinoidi.

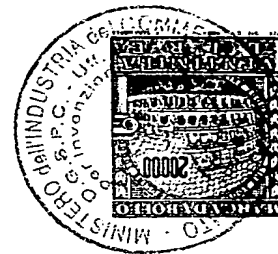
2. Uso secondo la rivendicazione 1, in cui:

- R_1 è metile;
- Y è idrogeno o un gruppo saccaridico scelto tra D- e L-ribosio, D- e L-glucosio, D- e L-galattosio, D- e L-mannosio, D-fruttosio, D- e L-glucosammina, D-galattosammina, D-mannosammina, acido glucuronico, acido sialico, N-acetil-D-glucosammina,


Dr. Rinaldo FERRECCIO

N. Iscriz. ALEO 525

(In proprio e per gli altri)



N-acetil-Dgalattosammina, N-acetil-D-mannosammina;
 oppure amminoetile, dimetilamminoetile,
 trimetilamminoetile; oppure metilcarbonil,
 fenilcarbonil, piridinocarbonil, trimetossi
 fenilcarbonil, emisuccinoil, amminometil-carbonil,
 amminopropilcarbonil, dimetilammino metilcarbonil,
 trimetilammino metilcarbonil, sulfono fenilcarbonil;
 oppure fosfato, sulfonato; oppure etilossicarbonil,
 benzilossicarbonil, isobutilossi carbonil,
 dimetilamminopropilossicarbonil, trimetilammino-
 etilossicarbonil;

- R₃ è idrogeno.

3. Uso secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui R o R₂, assieme ai gruppi -CO- terminali cui sono legati, sono rispettivamente mono- o di-radicali acilici di un acido scelto nel gruppo comprendente acido palmitico, acido arachidonico, acido ossalico, acido fumarico, acido maleico, acido azelaico, acido succinico, acido traumatico, acido muconico, acido cromoglicolico, acido malico, acido tartarico, acido aspartico, acido glutammico, acido oleico.

4. Uso secondo le rivendicazioni da 1 a 3, in cui detto composto di formula (I) è scelto tra:

- N-(4-idrossi-3-metossibenzil) oleoilamide;
- N-(4-idrossi-3-metossibenzil)palmitoilamide;

Dr. Rinaldo FERRECCIO
 N. iscriz. ALSO 525
 (in proprio e per gli altri)

- N-(4-idrossi-3-metossibenzil)arachidonoil-amide;
- N,N'-bis(4-idrossi-3-metossibenzil)nonan diamide.

5. Uso secondo le rivendicazioni da 1 a 4, per il trattamento di patologie caratterizzate da un elevato grado di iperreattività cellulare e tissutale sostenuto da livelli sopramassimali di Nerv Growth Factor.

6. Uso secondo le rivendicazioni da 1 a 4, per la preparazione di un medicamento ad attività antiproliferativa su tumori dipendenti dalla presenza del recettore della prolattina.

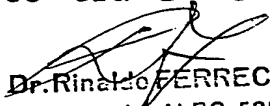
7. Uso secondo la rivendicazione 6, in cui detti tumori sono il tumore della mammella ed il carcinoma della prostata.

8. Uso secondo le rivendicazioni da 1 a 5, in associazione con un composto ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi.

9. Uso secondo la rivendicazione 8, in cui dette molecole ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi sono ALIAMidi.

10. Composti di formula (I) come definita nella rivendicazione 1, con la condizione che Y è un gruppo saccaridico.

11. Composti secondo la rivendicazione 10, in cui detto gruppo saccaridico è scelto tra D- e L-



Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. iscriz. ALBO 525
(in proprio e per gli altri)

ribosio, D- e L-glucosio, D- e L-galattosio, D- e L-mannosio, D-fruttosio, D- e L-glucosammina, D-galattosammina, D-mannosammina, acido glucuronico, acido sialico, N-acetil-D-glucosammina, N-acetil-Dgalattosammina, N-acetil-D-mannosammina.

12. Processo per la preparazione dei composti di formula (I) secondo le rivendicazioni 10 o 11, comprendente una fase di coniugazione di un residuo monosaccaridico con un composto di formula (I) in cui Y è idrogeno, in presenza di un promotore di glicosilazione.

13. Processo secondo la rivendicazione 12, in cui detto promotore di glicosilazione è scelto nel gruppo comprendente argento solfato, argento carbonato, argento perclorato, argento salicilato, argento trifluorometansolfonato, miscela $\text{SnCl}_4/\text{AgClO}_4$, $\text{BiCl}_3/\text{AgClO}_4$, $\text{SbCl}_3/\text{AgClO}_4$, eventualmente combinati con iodosobenzene, stagno(II) trifluorometansolfonato, acido trifluorometan solfonico, N-iodosuccinimide combinata con acido trifluorometansolfonico, trimetilsililtrifluoro metansulfonato oppure boro trifluoruroeterato.

14. Composizioni farmaceutiche comprendenti uno o più composti secondo le rivendicazioni 10 o 11 in miscela con eccipienti farmaceuticamente accettabili.


 Dr. Renato FERRECCIO
 N. iscriz. ALBO 525
 (in proprio e per gli altri)


15. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 14, in cui i composti sono presenti sotto forma micronizzata o comicronizzata con uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili.

16. Composizioni farmaceutiche comprendenti uno o più composti di formula (I), come definita nella rivendicazione 1, in associazione con un composto ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi e con eccipienti farmaceuticamente accettabili.

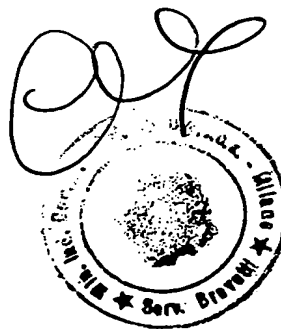
17. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 16, in cui detti composti ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi sono ALIAMmidi.

18. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 16 o 17, in cui i composti sono presenti sotto forma micronizzata o comicronizzata con uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili.

19. Kit per la somministrazione simultanea, sequenziale o separata, comprendente uno o più composti di formula (I), come definita nella rivendicazione 1, e un composto ad attività agonista sul recettore CB2 dei cannabinoidi in opportune formulazioni farmaceutiche.


Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

20. Kit secondo la rivendicazione 19, in cui i composti sono presenti sotto forma micronizzata o com micronizzata con uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili.



Rinaldo Ferreccio
Dr. Rinaldo FERRECCIO
N. Iscriz. ALBO 525
(In proprio e per gli altri)

THIS PAGE BLANK (USPTO)